

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره چای سیاه بر (*Camellia sinensis*) روی باکتری‌های مولد التهاب ملتحمه چشم در شرایط آزمایشگاهی

دکتر سید عزت اله معمارزاده^۱، مجید ولیدی^{۲*}، غلامرضا مبینی^۳، دکتر محمود رفیعیان کوپایی^۱، شاهین

منصوری^۴

^۱مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ ^۲گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛ ^۳گروه آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران؛ ^۴همدان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۲/۲۲ اصلاح نهایی: ۹۱/۳/۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۶/۱۱

چکیده:

زمینه و هدف: کنژنکتیویت شایع ترین بیماری چشمی جهان است که یکی از پایه های درمان آن استفاده از آنتی بیوتیک ها می باشد. با توجه به مقاومت روزافزون باکتری ها به آنتی بیوتیک های موجود و عوارض آنها و استفاده چای به عنوان التیام بخش التهاب های چشمی بر اساس یک باور قدیمی، این مطالعه با هدف بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره چای سیاه برای درمان کنژنکتیویت چرکی انجام شده است. روش بررسی: در این مطالعه تجربی نمونه ها از چشم بیماران مبتلا به کنژنکتیویت مراجعه کننده به کلینیک چشم پزشکی شهرکرد جمع آوری و روی محیط های کشت، کشت داده شدند. سپس توسط محیط های کشت افتراقی و تست های تشخیصی از سه نوع باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *استرپتوکوکوس پنومونیه* هر کدام ۱۰ نمونه (جمعاً ۳۰ نمونه) جدا شد. این نمونه ها جداگانه در روشهای pour plate با استفاده از غلظت های مختلف عصاره چای سیاه و تست آنتیتوسط دیسک های استاندارد آنتی بیوتیک شامل ونکوماکسین، کلرامفنیکل، اگراسیلین، سفازولین و سیپروفلوکساسین مورد آزمایش قرار گرفتند. داده ها به کمک آزمون های آماری کای دو، t و آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شد. یافته ها: نتایج به دست آمده حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره چای سیاه بر روی رشد باکتری های جدا شده اثر مهاري وابسته به دوز دارد ($P<0/05$). این اثر در غلظت ۵۰ mg/ml با اثر مهارکنندگی دیسک های آنتی بیوتیک ($P>0/05$) و در دیسک های غلظت ۱۰۰ mg/ml بیشتر از دیسک های آنتی بیوتیک مورد مطالعه بود ($P<0/05$). نتیجه گیری: با توجه به نتایج این مطالعه و مقایسه آن با مطالعات مشابه احتمالاً می توان عصاره چای سیاه را به عنوان یک عامل ضدباکتریایی در عفونت های چشمی معرفی کرد.

واژه های کلیدی: *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *استرپتوکوکوس پنومونیه*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، کنژنکتیویت، عصاره چای سیاه.

مقدمه:

التهاب ملتحمه (کنژنکتیویت) یکی از شایع ترین بیماری های چشمی در جهان است و شدت آن از یک پرخونی ملایم و اشک ریزش تا کنژنکتیویت شدید همراه با ترشح چرکی فراوان متغیر است. با وجود همه مکانیزم های دفاعی، ارگانیسم های متعددی از جمله فلور طبیعی ملتحمه قادر به نفوذ و عفونت زایی در چشم می باشند. پاتوژن های شایعی که می توانند کنژنکتیویت ایجاد کنند عبارتند از: *استرپتوکوک پنومونیه*، *هموفیلوس آنفلوآنزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *نسیریا مننژیتیدیس*، اغلب سروتپ های آدنوویروس های انسانی، و ویروس

هرپس سیمپلکس تیپ ۱ و ۲ و دو تایپ پیکورنا و وروس (۱).

نوشیدنی چای با دم کردن برگ ها، جوانه ها یا شاخه های فرآوری شده گیاه چای با نام علمی *Camellia sinensis* به مدت چند دقیقه در آب جوش تهیه می شود. چای یک منبع طبیعی از کافئین، تیوفیلین، تیائین و آنتی اکسیدان ها است، اما تقریباً بدون چربی، کربوهیدرات ها، یا پروتئین می باشد چای شامل کاتکین (Catechin) (نوعی آنتی اکسیدان) است (۳).

مصرف دم کرده چای باعث تسریع حرکات تنفسی، تسریع گردش خون، رفع خواب آلودگی، احساس تجدید نیرو، تقویت نیروی فکری، گوارش بهتر غذا و تعریق می شود.

کاتکین ها شامل کاتکین، اپی کاتکین، اپی گالو کاتکین موجود در چای سبز، مانع آزاد شدن نوعی توکسین به نام وروتوکسین از /شرشیا کلی اتروهموراژیک و در نتیجه مهار بیماریزایی این باکتری می شود (۲). همچنین این اثر در مورد پلی فنل های گیاهی نیز گزارش شده است (۳).

در مطالعه ای در سال ۲۰۰۱ مشخص شده که اپی گالو کاتکین کالات چای باعث کاهش انتقال پلاسمید بیماریزایی بین /شرشیا کلی می شود (۴).

همچنین گزارش های متعددی در باره اثرات ضد میکروبی انواع چای و پلی فنل های خالص آن (۵، ۶) روی انواع میکروب ها منتشر شده است. اثر سینرژیستیک چای با آنتی بیوتیک ها نیز گزارش شده است (۷). مطالعات انجام شده در این زمینه عمدتاً روی اثرات مهاری چای سبز بر استرپتوکوک های ساکن دهان، /استرپتوکوکوس موتانس (S. mutans) و /استرپتوکوکوس سوبرینوس (S. sobrinus) متمرکز بوده اند (۸).

در مطالعه ای دیگر اثر مهاری چای سیاه بر رشد باکتری /استرپتوکوکوس پیورنز و مقایسه آن با چای سبز در شرایط آزمایشگاه بررسی و نشان داده شده که مصرف چای سبز و سیاه در غلظت های بالا یا مکمل پلی فنل های

حاصل می تواند به عنوان درمانی کمکی در بیماران تحت درمان با آنتی بیوتیک ها مطرح باشد (۹).

شیوع عفونت های چشمی و افزایش روزافزون مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری ها و اینکه بر اساس یک باور قدیمی چای بعنوان التیام دهنده التهاب های چشمی و بعنوان یک ترکیب موثر در شستشوی چشم بکار می رود و همچنین تا بحال تحقیقی در مورد اثر ضد باکتریایی عصاره چای بر روی عوامل شایع عفونت های باکتریایی چشمی صورت نگرفته است، این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره چای سیاه برای درمان کژنکتیویت چرکی مورد بررسی قرار داده است تا در صورت موثر بودن عصاره چای سیاه بر روی عوامل باکتریایی عفونت های چشمی از آن در مطالعات مداخله ای آینده استفاده گردد.

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی از بیماران مبتلا به التهاب ملتحمه چشمی مراجعه کننده به کلینیک چشم پزشکی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد پس از کسب رضایت بیمار با نظر پزشک معالج با کمک سوآپ استریل از هر چشم نمونه برداری انجام شده نمونه گیری از بیمارانی که دارای علائمی مانند درد، قرمزی، احساس جسم خارجی، ترشح (Follicular Reaction -Mucopurulent) و همچنین هیچ آنتی بیوتیکی مصرف نکرده بودند، انجام شد. نمونه ها به محیط استوارت منتقل و سریعاً به مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی ارسال شد. پس از کشت نمونه ها بر روی محیط های کشت مغذی و رایج آزمایشگاهی (EMB, Blood agar, Chocolate agar) محیط های کشت در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید و سپس باکتری های رشد کرده بر روی محیط های کشت به وسیله روش ها و تست های استاندارد میکروب شناسی مورد شناسایی و تایید قرار گرفت. از بین باکتری های جدا شده، باکتری های

استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استرپتوکوکوس پنومونیا مورد مطالعه قرار گرفتند. از هر گونه باکتری ۱۰ نمونه و در مجموع ۳۰ نمونه انتخاب شد. در مرحله بعد آزمون حساسیت باکتریایی با دو روش Disk Diffusion و pour plate در برابر غلظت های مختلف عصاره چای مورد ارزیابی قرار گرفت. روش تهیه عصاره:

برای تهیه عصاره به روش پرکولاسیون، ۱۰۰ گرم چای سیاه به یک ارلن مایر، منتقل و ۲ لیتر اتانول ۷۰ درصد به آن اضافه گردید. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۶۰ درجه سانتی گراد، عصاره از کاغذ صافی عبور داد شده و تفاله فشرده شد تا عصاره کاملاً خارج شود. با افزودن اتانول به تفاله مراحل قبل تکرار گردید. سپس با استفاده از دستگاه تبخیر کننده عصاره (تبخیر در شرایط خلأ) عصاره تغلیظ و حجم آن به ۲۰ ml رسانده شد. عصاره تغلیظ شده با انکوباسیون در ۵۰ درجه سانتی گراد کاملاً خشک و سپس با کاردک تراشیده و در هاون سائیده شد. از عصاره خشک، محلول ۲۵۰ mg/ml در دی متیل سولفو کسید (DMSO) شد.

روش Pour plate:

ابتدا غلظت های ۰، ۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ از عصاره چایی سیاه در محیط تیوگلیکولات تهیه شد. سپس ۱ ml از سوسپانسیون باکتریایی، معادل استاندارد ۵/۵. مک فارلند ($10^8 \times 1/5$ باکتری) به غلظت های تهیه شده از عصاره چای سیاه افزوده و در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. پس از گذشت ۱، ۲، ۳، ۵، ۷ و ۲۴ ساعت، ۱ ml از این لوله ها به پلیت استریل منتقل و ۱۰ ml از محیط آگار مغذی ذوب شده در ۴۵ درجه سانتی گراد اضافه شد. پس از پخش یکنواخت باکتری در محیط، همه پلیت ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد و نتایج رشد یا عدم رشد باکتری روی محیط کشت پس از گذشت ۲۴ ساعت قرائت شد.

روش Disk diffusion

برای تهیه دیسک عصاره چای سیاه، مقدار ۲۵ ml

از غلظت های ۱۰ و ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر عصاره چای سیاه به دیسک های بلانک تلقیح شد. جهت خشک شدن دیسک ها به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند.

پس از تهیه کردن دیسک های عصاره چای سیاه با استفاده از غلظت های ۱۰ و ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر، نمونه باکتری های مورد مطالعه روی محیط کشت با سوآب استریل بصورت چمنی کشت داده شد (برای باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس از محیط مولر هینتون آگار و برای باکتری استرپتوکوکوس پنومونیه از محیط بلاد آگار استفاده شد) و دیسک های عصاره چای سیاه و دیسک های استاندارد آنتی بیوتیک (پادتن طب ایران) شامل سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، سفازولین (۳۰ میکروگرم)، ونکومايسين (۳۰ میکروگرم)، اوگراسیلین (۱ میکروگرم) و کلرامفنیکل (۳۰ میکروگرم) جداگانه روی محیط کشت قرار داده شد، سپس پلیت ها داخل انکوباتور در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت و بعد از ۱۸ ساعت نتایج حاصل قرائت گردید. قطر هاله ی عدم رشد در اطراف دیسک های حاوی عصاره ی چای و دیسک های استاندارد آنتی بیوتیک بر حسب میلی متر به وسیله ی خط کش اندازه گیری و ثبت شد.

داده های حاصل بوسیله روشهای آماری توصیفی و تحلیلی و با استفاده از آزمون های آماری t مستقل، کای اسکوئر و آنالیز واریانس (فرضیات برقراری این آزمون از قبیل نرمال بودن گروه ها توسط آزمون کلوگروف-اسمیرنوف تایید گردید) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها:

نتایج بدست آمده از روش Pour plate نشان داد با افزایش غلظت عصاره چای سیاه رشد باکتری ها کاهش می یابد ($P < 0.05$) به طوری که پس از ۲۴ ساعت

در غلظت ۵ میلی گرم بطور متوسط ۹۹/۶ درصد، در غلظت ۱۰ میلی گرم ۷۳ درصد، در غلظت ۲۵ میلی گرم ۴۰ درصد، در غلظت ۵۰ میلی گرم ۱۰ درصد و نهایتاً در غلظت ۱۰۰ میلی گرم تنها در ۲ درصد از پلیت‌ها رشد باکتری مشاهده شد (نمودار شماره ۱).

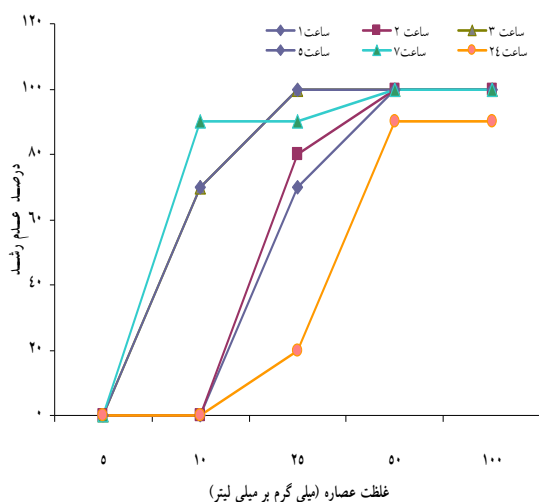
تحلیل نتایج به دست آمده از روش Pour plate برای باکتری‌های مورد مطالعه نشانگر معنی دار بودن تاثیر ساعات مختلف در سطوح مختلف غلظت عصاره چای سیاه بر رشد باکتری‌های مورد مطالعه می باشد ($P < 0/001$) (نمودارهای شماره ۳، ۴ و ۵).

بر اساس آزمون آنالیز واریانس بین میانگین قطر هاله عدم رشد گروه‌های آنتی بیوتیک وانکومایسین، اگزاسیلین، سیپروفلوکساسین، سفازولین و کلرامفنیکل با غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ mg/ml عصاره چای سیاه اختلاف معنی دار وجود داشت ($P < 0/001$). با استفاده از آزمون تعقیبی LSD در مقایسه گروه‌های دیسک‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره چای سیاه (سه گروه ۱۰، ۵۰، ۱۰۰) با گروه دیسک‌های استاندارد آنتی بیوتیک (به عنوان

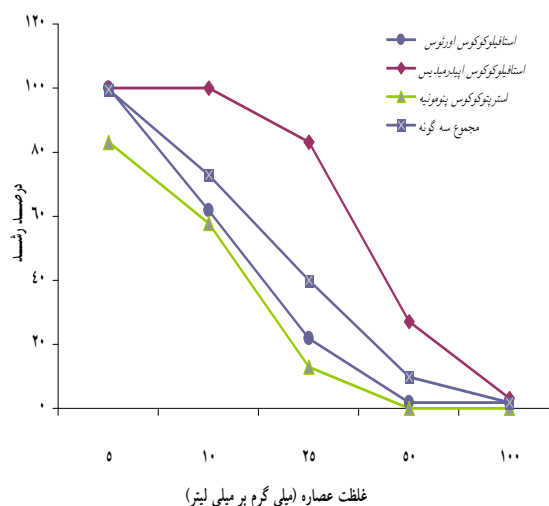
یک گروه واحد) اختلاف معنی داری بین قطر هاله عدم رشد بدست آمد ($P < 0/001$) و تنها در مقایسه غلظت ۵۰ mg/ml با آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، سفازولین و کلرامفنیکل تفاوت معنی داری وجود نداشت ($P > 0/05$).

در مقایسه نتایج، غلظت ۵۰ mg/ml عصاره چای سیاه با گروه آنتی بیوتیک‌ها تاثیر دیسک حاوی عصاره چای سیاه با غلظت ۵۰ mg/ml از تاثیر دیسک حاوی عصاره چای سیاه با غلظت ۱۰ mg/ml ($P < 0/001$) و آنتی بیوتیک اگزاسیلین ($P < 0/001$) و ونکومایسین ($P < 0/001$) بیشتر بوده و نسبت به دیسک حاوی عصاره چای سیاه با غلظت ۱۰۰ mg/ml اثر کمتری داشت ($P < 0/001$). مقایسه نتایج غلظت ۵۰ mg/ml عصاره چای سیاه با آنتی بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، سفازولین و کلرامفنیکل تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P > 0/05$).

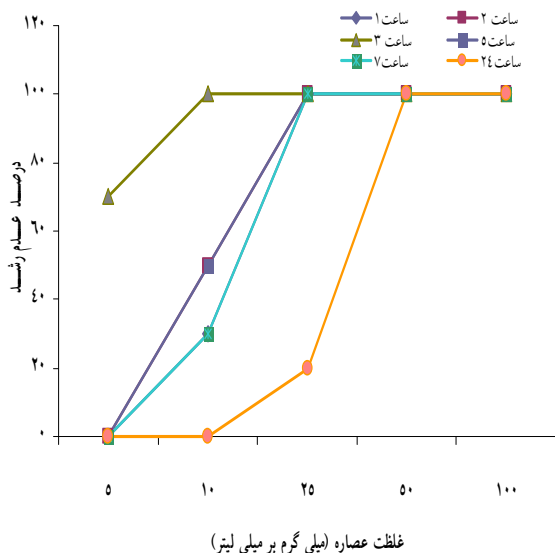
غلظت ۱۰۰ mg/ml بیشترین تاثیر را در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های مورد مطالعه در این پژوهش و



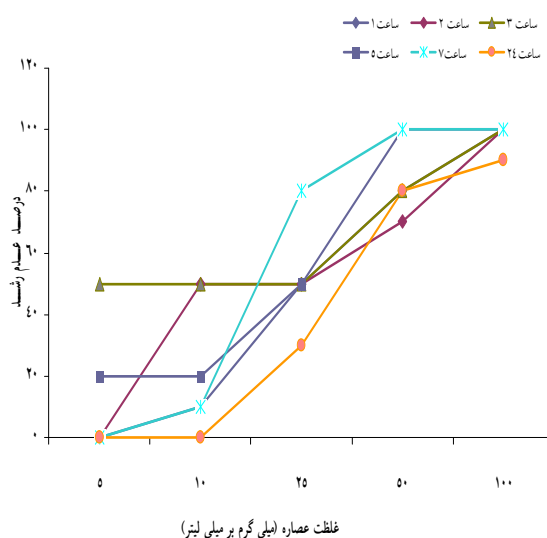
نمودار شماره ۲: درصد فراوانی عدم رشد باکتری استافیلوکوک اورئوس در غلظت‌های مختلف عصاره چای سیاه و ساعات مختلف تاثیر عصاره
 $P < 0/001$ در مقایسه ساعات مختلف



نمودار شماره ۱: درصد رشد باکتری‌های مورد بررسی در پلیت‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره چای سیاه
 $P < 0/05$ اثر مهارتی وابسته به دوز در هر سه گونه



نمودار شماره ۴: درصد فراوانی عدم رشد باکتری استرپتوکوک پنومونیه در سطوح غلظت های مختلف عصاره چای سیاه و ساعات مختلف تاثیر عصاره
 $P < 0.001$ در مقایسه ساعات مختلف



نمودار شماره ۳: درصد فراوانی عدم رشد باکتری استافیلوکوک اپیدرمیدیس در غلظت های مختلف عصاره چای سیاه و ساعات مختلف تاثیر عصاره
 $P < 0.001$ در مقایسه ساعات مختلف

جدول شماره ۱: میانگین قطر هاله عدم رشد دیسک های حاوی عصاره چای سیاه و مقایسه آنها با دیسک های استاندارد آنتی بیوتیک با استفاده از روش Disk diffusion

نوع باکتری	عصاره چای (mg/ml)			ونکومايسين	اگزاسيلين	کلرامفنیکل	سفازولین	سیپروفلوکساسین
	۱۰	۵۰	۱۰۰					
استافیلوکوکوس اورنوس	۹۳/۰۸۳	۱۹/۴ ± ۱/۶	۲۴/۵ ± ۱/۶	۱۵/۱ ± ۱/۲	۱۶/۱ ± ۱/۱۵	۱۸/۱ ± ۱/۶	۲۰/۹ ± ۲/۲	۱۹/۸ ± ۲/۱
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۲۷/۰۵۷	۲۰ ± ۲/۴	۲۵ ± ۳/۱	۱۱/۴ ± ۰/۹۷	۱۵ ± ۰/۸۲	۲۲ ± ۱	۱۴/۸ ± ۰/۸	۱۷ ± ۰/۷۴
استرپتوکوکوس پنومونیه	۱۴/۳ ± ۱	۲۳/۴ ± ۱/۶	۲۸/۵ ± ۱/۶	۲۱/۷ ± ۱/۳	۱۴/۶ ± ۱/۳	۲۴/۴ ± ۱/۵	۲۴ ± ۱/۱۵	۲۵/۲ ± ۱
مجموع سه گونه	۸/۵ ± ۵/۷	۲۱ ± ۲/۵	۲۵/۸ ± ۲/۹	۱۶/۱ ± ۴/۵	۱۵/۲ ± ۱/۲	۲۱/۴ ± ۲/۹	۲۰ ± ۴	۲۰/۶ ± ۳/۸

داده ها بر حسب میلی متر می باشد.

$P < 0.001$ بر اساس آزمون آنالیز واریانس در مقایسه گروه های آنتی بیوتیک با غلظت های عصاره چای سیاه و در مقایسه گروه های دیسک های حاوی غلظت های مختلف عصاره چای سیاه (سه گروه ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰) با گروه دیسک های استاندارد آنتی بیوتیک (به عنوان یک گروه واحد) با استفاده از آزمون تعقیبی $LSD (P > 0.05)$ در مقایسه غلظت 50 mg/ml عصاره با آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین، سفازولین و کلرامفنیکل. $P = 0.011$ بر اساس آزمون آنالیز واریانس بین تاثیر عصاره بر نوع باکتری

معنی داری در خصوص تاثیر پذیری عصاره چای سیاه بر باکتری های مورد مطالعه وجود دارد یا خیر، بدون در نظر گرفتن نتایج حاصل از تاثیر آنتی بیوتیک و تنها با لحاظ کردن تاثیر غلظت های متفاوت عصاره چای سیاه روی

همچنین در مقایسه با غلظت ها ۱۰ و 50 mg/ml عصاره چای سیاه داشت (در همه موارد $P < 0.001$) (جدول شماره ۱).
 به منظور مقایسه ای مبنی بر این که آیا تفاوت

باکتری‌های مورد مطالعه، نتایج موجود توسط آزمون آنالیز واریانس بررسی شد که نشان دهنده معنی دار بودن آزمون و تفاوت بین تاثیر عصاره جای سیاه بر باکتری‌های مورد مطالعه می باشد ($P=0/011$). در ادامه آزمون متعاقب LSD انجام شد که نشان داد بین گروه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* تفاوت معنی داری در پاسخ به عصاره جای وجود ندارد ($P=0/368$). ولی در مقایسه آن ها با گروه *استرپتوکوکوس پنومونیا* تفاوت معنی داری مشاهده شد (به ترتیب $P=0/04$ و $P=0/004$).

بحث:

از آنجا که هدف اصلی این تحقیق بررسی پتانسیل ضد میکروبی عصاره جای سیاه بر روی میکروارگانیسم های شایع کنژنکتیویت بوده سه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *استرپتوکوکوس پنومونیا* انتخاب شده اند. این انتخاب مبنی بر ذکر شیوع بالای آن ها در منابع علمی چشم پزشکی (۱) و بررسی نمونه های جمع آوری شده در کلینیک چشم پزشکی از موارد کنژنکتیویت صورت گرفته است. یافته های این مطالعه بیانگر وجود خاصیت ضد باکتریایی عصاره جای سیاه بر هر سه گونه بود، که مسلماً این تاثیر ضد باکتریایی بر همه باکتری های جدا شده به عنوان شایع ترین عوامل کنژنکتیویت نیز دیده می شود.

Taguri و همکاران در بررسی تاثیر پلی فنل های موجود در گیاه جای و چند گیاه دیگر بر چند گونه باکتری در شرایط *in vitro* نشان دادند که این تاثیر وابسته به دوز می باشد (۵). در مطالعه ما نیز نشان داده شد که عصاره جای سیاه بر رشد باکتری های شایع عامل کنژنکتیویت اثر مهاری دارد و این اثر وابسته به دوز می باشد. در مطالعه خلجی نیستانی عصاره جای سیاه بر باکتری *E.coli* اثر مهاری داشته که این اثر وابسته به دوز و مربوط به توان آنتی اکسیدانی آن ذکر شده است (۱۰). در مطالعه دیگری که اثر عصاره جای سیاه بر

باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* بررسی شد عصاره جای سیاه بر رشد باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* اثر مهاری داشت و این اثر در دیسک های حاوی عصاره جای سیاه با غلظت 100 mg/ml با آنتی بیوتیک های آمپی سیلین، آموکسی سیلین و سفالکسین قابل مقایسه و مشابه بود (۹). در مطالعه ما نیز تاثیر مهاری عصاره جای سیاه بر رشد باکتری در شرایط *invitro* مشاهده شد. اثر مهاری کننده دیسک های حاوی عصاره جای سیاه با غلظت 50 mg/ml و 100 قابل مقایسه با اثر دیسک های آنتی بیوتیک و حتی بیشتر از تاثیر آن ها گزارش شد. اثرات ضد باکتریایی انواع چای عمدتاً به ترکیبات پلی فنلی آنها نسبت داده شده است. پلی فنل ها آنتی اکسیدان هایی قوی هستند اما در شرایط ویژه ممکن است به عنوان پرو اکسیدان عمل کنند (۶). احتمال داده می شود که پلی فنل های چایی از همین طریق، اثر مهاری خود را بر رشد باکتریایی اعمال کنند. در مطالعه ای اثرات مهاری چای بر رشد باکتری *اشرشیا کلی* را مستقیماً به توان آنتی اکسیدان آن مربوط دانسته و بیان شده است که پلی فنل های چای در شرایط خاصی به صورت آنتی اکسیدان عمل کرده و از این طریق اثر مهاری خود را اعمال می کنند (۹). در مطالعات مختلف نیز اثر پلی فنل های گیاهان دیگر در مهار رشد باکتری های مختلف نشان داده شده است (۵، ۱۱).

در این مطالعه همچنین نشان داده شد که باکتری های مورد مطالعه تاثیر پذیری متفاوتی در برابر عصاره جای سیاه نسبت به یکدیگر از خود نشان می دهند. همانند این مطالعه، دیگر محققین نیز به حساسیت متفاوت گونه های باکتریایی در برابر عصاره جای اشاره کرده اند (۵) احتمالاً تفاوت حساسیت باکتری های گوناگون به مواد ضد میکروبی به علت ساختار متفاوت میکروارگانیسم ها می باشد. غلظت های متفاوت عصاره نیز در تاثیر ضد میکروبی آن موثر است و با تغییر میزان غلظت آن اثرات ضد میکروبی عصاره جای تغییر می کند. این احتمال مطرح است که نقش اصلی ضد باکتریایی عصاره جای

سیاه مربوط به پلی فنل های موجود در آن باشد.

نتیجه گیری:

عصاره ی چای سیاه در شرایط Invitro اثر باز دارنده بر رشد باکتری های عامل کژنکتیویت دارد. تاثیر عصاره ی چای سیاه در غلظت ۵۰ mg/ml در مقایسه با آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین، سفازولین، ونکومایسین، اوگزاسیلین و کلرامفنیکل تقریباً مشابه و در غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر بالاتر می باشد.

با توجه به یافته های حاصل از این پژوهش و مقایسه آن با مطالعات دیگر می توان عصاره چای سیاه را ترکیبی قابل توجه ای در کنترل و مهار رشد باکتری های عامل کژنکتیویت در شرایط invitro دانست. بدیهی است استفاده از عصاره چای سیاه برای درمان کژنکتیویت نیازمند انجام پژوهش های بیشتر در این زمینه می باشد. همچنین از آنجا که اثرات ضد باکتریایی چای به پلی فنل های موجود در آن نسبت داده شده می توان از بررسی اثر پلی فنل های خالص در مطالعات آتی سود جست. همچنین شایسته است در زمینه مکانیسم های تاثیر گیاه بر روی باکتری ها و نیز پاسخ های فیزیولوژیک باکتری ها در تماس با این مواد مطالعه بیشتری انجام شود.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به دلیل قبل هزینه انجام طرح، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی جهت همکاری در انجام طرح و کلیه بیمارانی که در این زمینه همکاری نمودند، قدردانی به عمل می آید.

منابع:

1. Vaughan DG, Asbury T, Riordan Eva P. General ophthalmology. 14th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1995.
2. Sugita-Konishi Y, Hara-Kudo Y, Amano F, Okubo T, Aoi N, Iwaki M, et al. Epigallocatechin gallate and gallic acid inhibit extracellular release of Vero toxin from enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Biochim Biophys Acta*. 1999 Oct; 1472(1-2): 42-50.
3. Nataro JP. Atypical enteropathogenic *Escherichia coli*: typical pathogens? *Emerg Infect Dis*. 2006 Apr; 12(4): 696.
4. Zhao WH, Hu ZQ, Hara Y, Shimamura T. Inhibition by epigallocatechin gallate (EGCg) of conjugative R plasmid transfer in *Escherichia coli*. *J Infect Chemother*. 2001 Sep; 7(3): 195-7.
5. Taguri T, Tanaka T, Kouno I. Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food-borne disease. *Biol Pharm Bull*. 2004 Dec; 27(12): 1965-9.
6. Bandyopadhyay D, Chatterjee TK, Dasgupta A, Lourduraja J, Dastidar SG. In vitro and in vivo antimicrobial action of tea: the commonest beverage of Asia. *Biol Pharm Bull*. 2005 Nov; 28(11): 2125-7.
7. Isogai E, Isogai H, Hirose K, Hayashi S, Oguma K. In vivo synergy between green tea extract and levofloxacin against enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 infection. *Curr Microbiol*. 2001 Apr; 42(4): 248-51.
8. Tiwari TP, Bharti SK, Kaur HD, Dikshit RP, Hoondal GS. Synergistic antimicrobial activity of tea & antibiotics. *Indian J Med Res*. 2005 Jul; 122(1): 80-4.

9. Kkhalaji N, Neyestani N. Inhibitory effects of black tea (*Camellia sinensis*) extracts on *Streptococcus pyogenes*: A comparison between black and green teas in vitro. *Nutr Sci Food Technol*. 2007; 2(1): 41-7.
10. Khalaji N, Neyestani N. The inhibitory effects of black and green teas (*Camellia sinensis*) on growth of pathogenic *Escherichia coli* in vitro. *Nutr Sci Food Technol*. 2006; 1(3): 33-8.
11. Yanagida A, Kanda T, Tanabe M, Matsudaira F, Oliveira Cordeiro JG. Inhibitory effects of apple polyphenols and related compounds on cariogenic factors of mutans streptococci. *J Agric Food Chem*. 2000 Nov; 48(11): 5666-71.

The antibacterial effect of camellia sinensis extract on bacterias, conjunctivitis in vitro

Memarzadeh SA (MD)¹, Validi M (PhD student)^{2*}, Mobini GhR (PhD student)³, Rafeian-Kopaei M (PhD)¹, Mansouri Sh (PhD student)⁴

¹Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; ²Pathobiology Dept., Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran; ³Cellular and Molecular Dept., Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran; ⁴Statistic Dept., Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan I.R. Iran.

Received: 12/Mar/2012 Revised: 22/May/2012 Accepted: 1/Sep/2012

Background and aims: Conjunctivitis is one of the most prevalent ophthalmic diseases. The most feasible treatment of that is using antibiotics. According to arising bacterial resistance to usual antibiotics and their side effects, and using of tea as a healing for ophthalmic diseases base on the traditional beliefs, this study was done to evaluate the antibacterial effect of tea on conjunctivitis diseases.

Methods: In this experimental study, patients suffering from conjunctivitis were sampled from the ophthalmology clinic in Shahrekord, Iran. Samples were transferred to the microbiology lab and were subjected to differential culture media and diagnostic tests. Ten samples from each group (totally 30) were isolated from each of the three bacteria including *S. aureus*, *S. epidermidis* and *S. pneumonia*. These strains were separately tested using the pour plate technique with different dilutions of black tea extract. In addition, antibiograms were performed using standard antibiotic disks including vancomycin, Chloramphenicol, Oxacillin, Cefazolin and Ciprofloxacin. Data were analyzed using Chi square, t test and ANOVA.

Results: Findings of this study showed that tea extract had a dose dependant inhibitory effects on bacterial growth ($P<0.05$). This antibacterial effect exists in densities of 50. This effect had a rise in shifting from 50 to 100 mg/ml ($P<0.05$).

Conclusion: According to this study's findings and comparison with similar previous studies, we might suggest tea extract as an antibacterial drug in conjunctivitis.

Keywords: Conjunctivitis, Tea extract, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumonia*.

Cite this article as: Memarzadeh SA, Validi M, Mobini GhR, Rafeian M, Mansouri Sh. The antibacterial effect of tea extracts bacteria producer ophthalmia in vitro. J Sharekord Univ Med Sci. 2012 Oct, Nov; 14(4): 61-69.

*Corresponding author:

Pathobiology Dept., Health faculty, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran.
Tel: 00989133364890, E-mail:validi543@gmail.com